

## 水浸拘束ストレスラット胃の生理学的ならびに電顕学的研究

順天堂大学第1外科教室(指導:城所 功教授)

津村 秀憲

### PHYSIOLOGICAL AND ELECTRON MICROSCOPICAL STUDIES ON THE EXO-AND ENDOCRINE CELLS OF THE STOMACH AFTER WATER IMMERSION RESTRAINT IN THE RAT

Hidenori TSUMURA

The First Department of Surgery, Juntendo University, School of Medicine

水浸拘束ストレスラットを用いて胃内外分泌機能を生理学的, 形態学的に検討した。胃外分泌細胞の壁細胞, 主細胞はストレス負荷後早期より分泌亢進状態を示した。胃体部上皮細胞はストレス負荷後粘液顆粒層が増加し4時間目以降より上皮細胞の破壊像が観察された。内分泌細胞のG細胞はストレス負荷後6時間目ではΩ型の開口分泌像が観察され, 血中ガストリンは $188.92 \pm 37.63 \text{ pg/ml}$ とストレス負荷前値より有意( $P < 0.01$ )の増加を示した。また血中ガストリン値と胃液酸度との間には有意( $P < 0.01$ )の逆相関関係を示した。EC細胞は生理学的反応と形態学的反応像との間には一定の傾向が観察されなかった。

索引用語: 水浸拘束ストレス潰瘍

#### I 緒言

生体が何らかの傷害を外から受けると生体は警告反応をおこし, 慢性的にストレスにさらされると抵抗期へと移行する。もしもこのストレスがあまり強くかつ長く続く場合には生体は疲労期に入り, 諸臓器に種々の変化をきたすが, これが胃にあらわれると急性潰瘍が発生する。すなわちストレス潰瘍は局所性の疾患ではなく全身性の疾患である。以上が Selye<sup>1)</sup>によって導入されたストレス潰瘍の概念である。今日までその成因あるいは病態に関して, 臨床的, 実験的研究が数多く報告されてきている。ストレスが生体加わると前部視床下部→迷走神経系, 後部視床下部→交感神経系, 後部視床下部→下垂体→副腎系など種々の経路を介して胃に潰瘍性病変が生ずるといわれている<sup>2)3)</sup>。これらの経路を介した刺激により, 胃分泌, 胃血流, 胃運動などが種々の変化を受けるが, これらの変化には各種の消化管ホルモン, 生体活性アミンが密接に関与していることが知られている。ストレス負荷後の胃の生理学的変化として胃酸分泌の面から Kitagawa<sup>4)</sup>らは水浸拘束ラットを用いて胃液分泌の増加を, 粘液分泌の面から Sander<sup>5)</sup>は冷水拘束ラットを用いて胃粘膜内の hexosamine の低下を, また胃粘膜関門の面から北

島<sup>6)</sup>は熱傷ラットを用いて H<sup>+</sup>の粘膜透過性の亢進と肉眼的胃粘膜の変化とが相関していることを報告している。胃粘膜代謝の面から Hunt<sup>7)</sup>らは種々の条件で粘膜内の Adenosine Triphosphate, Adenosine Monophosphate などの細胞エネルギー代謝を検討しているが, これらの低下により潰瘍が発生すると報告している。活性アミンとストレス潰瘍の関係について Rowley<sup>8)</sup>らは胃粘膜内のセロトニン, ヒスタミンが微小循環, 毛細血管のうっ血, 透過性の亢進をおこし表在性の潰瘍を発生させると述べている。また教室の金沢<sup>9)</sup>はカテコールアミンがストレス潰瘍の発生に予防的役割をしていることを水浸拘束ストレスラットで証明している。一方ストレス負荷後の胃の形態学的変化を検討した報告として壁細胞, 主細胞, 内分泌細胞の超微細構造変化について Roszkiewicz<sup>10)</sup>が出血性ショックを用いて, また Rainsford<sup>11)</sup>がアスピリンを使用して検討しているが, 水浸拘束ストレス負荷後の胃内外分泌細胞の電顕学的研究報告例は数少ない<sup>12)</sup>。これらストレス負荷後の胃内外分泌機能の変化を生理学的ならびに電顕学的に同時に観察した報告はこれまでにない。今回著者は水浸拘束ストレスラットを用いて胃外分泌機能の変化を主細胞, 壁細胞および胃体部

の上皮細胞で、また胃内分泌機能の変化をガストリン産生細胞（以下G細胞）ならびにセロトニン産生細胞（以下EC細胞）で電顕学的に観察し、同時に胃内外分泌応を生理学的な面より検討した。

## II 研究対象ならびに研究方法

### 1. 研究対象

研究対象は体重160~180g 平均170g の Wistar 系雄性ラットを使用し、1群5匹として計360匹用いた。

### 2. 研究方法

#### 1) ストレス潰瘍作成方法（潰瘍係数算定法も含む）

ストレス潰瘍作成方法は簡便で再現性のよい高本、岡部<sup>13)</sup>の方法に従って水浸拘束法を用いて行った。その方法はラットをストレス負荷前24時間絶食とし水分のみをあたえ、金網箱に拘束し22℃の恒温槽に肩まで水浸して行った。潰瘍係数算定法はストレス負荷後ただちにエーテル麻酔下で開腹し胃を摘出し1%ホルマリン10ml 胃内に注入し固定を行った。固定後大弯を開き水洗し、胃粘膜に残った出血斑を1mm<sup>2</sup>を1コと数えて数値化して合計を潰瘍面積とし潰瘍係数（ulcer Iddex）で表わした。得られた潰瘍係数は金沢<sup>9)</sup>の方法により補正し平均値±SDであらわした。さらに潰瘍係数算定、胃内外分泌機能の形態学的ならびに生理学的検討は、ストレス負荷前、同負荷後30分、1時間、2時間、4時間、6時間、8時間、12時間、24時間の計9回行った。

#### 2) 実験群

① 胃酸分泌測定および壁細胞、上皮細胞の電顕学的検索群

ストレス負荷後経時的に各時間2匹1群で5群ずつ胃酸度を測定し、同時に電顕学的検索のため胃体部より壁細胞および上皮細胞用標本を採取した。

② 胃液中ペプシン活性の測定および主細胞の電顕学的検索群

ストレス負荷後経時的に各時間3匹1群で5群ずつ、胃液中のペプシン測定と同時に電顕学的検索のため主細胞用標本を採取した。

③ 血中ならびに幽門粘膜内ガストリン含有量の測定およびG細胞の電顕学的検索群

ストレス負荷後経時的に各時間5匹ずつ血中ならびに幽門粘膜内ガストリン含有量を測定し、同時に電顕学的検索のためのG細胞用標本を採取した。

④ 血中ならびに幽門粘膜内セロトニン含有量の測定およびEC細胞の電顕学的検索群

ストレス負荷後経時的に各時間5匹ずつ血中ならび

に幽門粘膜内セロトニン含有量を測定し同時に電顕学的検索のためEC細胞用標本を採取した。

#### 3) 胃液酸度の測定法

胃液酸度は実験終了直ちに開腹して胃を取り出し胃液を採取後、富士化学計器製MH-10型のpHスタットを用いて0.1N, NaOHにてpH7まで滴定した行った。

#### 4) 胃液中ペプシン活性の測定法

胃液中ペプシン活性の測定は胃液酸度測定と同様に実験終了後エーテル麻酔下で胃を取り出し胃液を採取し、Anson & Mirsky 変法にてペプシン活性を測定した。

5) 血中ならびに幽門粘膜内ガストリン含有量の測定法

血中ガストリン値の測定は実験終了後エーテル麻酔下で心臓穿刺により血液を3ml採血し、血清分離後、C.I.S-Gastrin radioimmunoassay (R.I.A.) kitを用いて行った。粘膜内ガストリン含有量の測定は幽門洞粘膜を採取し、湿重量測定後直ちにSwiss Kinematica社製 polytoron 超高速 homogenizer で細切し再蒸留水5ml (pH 5.78) 中で3分間煮沸浴を行った後、12,000.r.p.m. で20分間冷却遠沈し得られた上清をR.I.A.に供した。ガストリンの測定は上清を25倍に稀釈し血中ガストリンと同様にC.I.S.-R.I.A kitを用いたが、各検体にはequine serumを0.1mlずつ加えて測定を行った。

6) 血中ならびに幽門粘膜内セロトニン含有量の測定法

血中セロトニンの測定は実験終了後採取した血液をUnderfriend 変法を用いて測定した。組織中セロトニン含有量は幽門洞粘膜を採取し、組織約1gを細切した後、0.1N HClO<sub>4</sub>にてhomogenizeし約1時間0℃にて放置し、遠心分離後上清を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。

#### 7) 電顕学的観察法

電顕標本の採取は壁細胞、主細胞および上皮細胞を胃体中部後壁より、G細胞およびEC細胞を幽門部後壁中心部より行った。各電顕試料は実験終了後2% glutalaldehyde で前固定後、1% osmic acid で後固定し、アルコール系列で脱水し、Luft's eponにて包埋した。超薄切片作成はトルインジンブルーで試料染色後、試料の破損の有無および粘膜の横断面、縦断面の像を光顕レベルで確認した後行った。得られた超薄切片は錯酸ウランおよび鉛の二重染色後、日立電顕H-500に

より観察に供した。

8) 測定値の統計処理

実測値の平均値±SDであらわした。データの統計処理は student t 検定にて行い、危険率 (P) が5% 以下の場合を有意差ありとした。

III 研究成績

1. 潰瘍係数の変動

潰瘍係数はストレス負荷前の 0 から負荷後 4 時間目で  $20 \pm 8 \text{ mm}^2$  と漸増傾向を示し、6 時間目より  $74 \pm 13 \text{ mm}^2$  と有意 ( $P < 0.01$ ) に増加した。その後は 24 時間まで 6 時間値に比べて有意の変動を示さずほぼ一定の値を保った (表 1)。

2. 胃外分泌機能の変化

1) 壁細胞機能の変化

① 胃内 pH 値の変化

胃内 pH 値はストレス負荷前の  $3.01 \pm 0.91$  から負荷後 30 分で  $1.62 \pm 0.15$  1 時間で  $1.60 \pm 0.19$  2 時間で  $1.29 \pm 0.21$  と有意の低下を示した。ストレス負荷後 6 時間目以降はストレス負荷前値と有意の変動を示さなかった (表 2)。

② 胃液酸度の変化

胃液酸度はストレス負荷前の  $3.88 \text{ mEq/l} \pm 1.15 \text{ mEq/l}$  からストレス負荷後 30 分で  $5.11 \pm 0.92 \text{ mEq/l}$ 、1 時間で  $5.15 \pm 1.59 \text{ mEq/l}$  2 時間で  $8.20 \pm 3.3 \text{ mEq/l}$  と有意に増加した。その後は漸減傾向を示し、6 時間以後はストレス負荷前値との間に有意差がみられなかった (表 3)。

③ 壁細胞の電顕学的変化

表 1 水浸拘束ストレスラット胃の潰瘍係数の経時的変化

ストレス負荷前 (mm <sup>2</sup> )	水浸拘束ストレス後 (mm <sup>2</sup> )							
	30分	1時間	2	4	6	8	12	24
0	3±2	5±3	10±5	20±8	74±13	68±10	76±16	71±15

\*  $p < 0.01$  ストレス負荷後 4 時間値との間に

表 2 水浸拘束ストレス後の胃内 pH の経時的変化

ストレス負荷前 (pH)	水浸拘束ストレス後 (pH)							
	30分	1時間	2	4	6	8	12	24
3.01 ±0.97	1.62 ±0.15	1.60 ±0.19	1.29 ±0.21	2.00 ±0.63	3.77 ±1.11	2.84 ±0.75	2.51 ±0.97	2.83 ±0.11

\*  $p < 0.01$  } : ストレス負荷前値との間に  
 \*\*  $p < 0.05$  }

表 3 水浸拘束ストレス後の胃液酸度の経時的変化

ストレス負荷前 (mEq/l)	水浸拘束ストレス後 (mEq/l)							
	30分	1時間	2	4	6	8	12	24
3.88 ±1.15	5.11 ±0.92	5.15 ±1.59	8.20 ±3.3	4.55 ±0.84	2.27 ±1.01	2.99 ±0.88	4.19 ±1.39	4.77 ±1.73

\*  $p < 0.01$  } : ストレス負荷前値との間に  
 \*\*  $p < 0.05$  }

ストレス負荷前の壁細胞内に多数の vesicle を含み、細胞内分泌細管の開大傾向は観察されなかった。細胞内分泌細管の microvilli の増加および丈の伸長も

図 1 ストレス負荷前の壁細胞 ×8000

N : 核, M : ミトコンドリア, V : vesicle, IC : 細胞内分泌細管。壁細胞内に vesicle が多く観察され細胞内分泌細管の開大傾向はみられない。

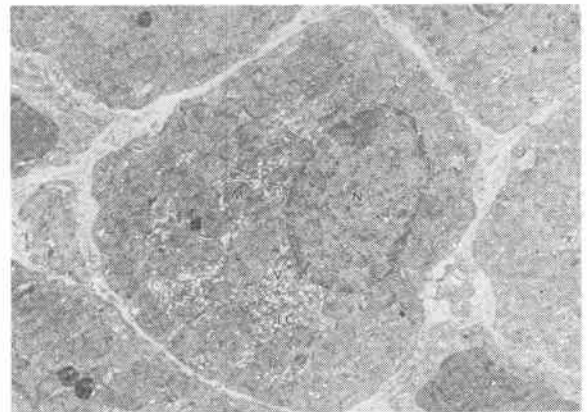
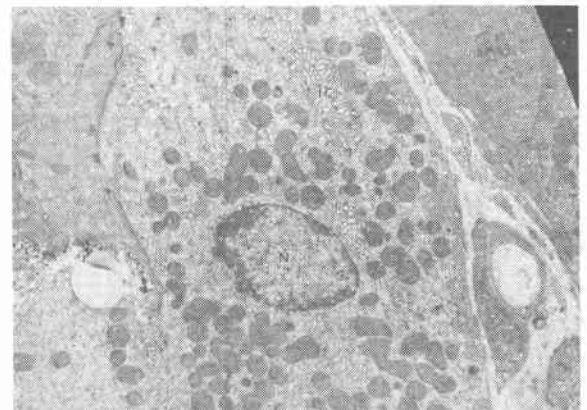


図 2 ストレス負荷後 2 時間目の壁細胞 ×8600

N : 核, IC : 細胞内分泌細管。壁細胞内の vesicle は減少し、細胞内分泌細管の開大傾向および microvilli の丈の伸長、増加が観察される。



みられず、いわゆる壁細胞の分泌休止期の像を示す細胞が多数観察された(図1)。ストレス負荷後は2時間目および4時間目に細胞質内の vesicle の減少, 細胞内分泌細管の開大および microvilli の数の増加, 丈の伸長がみられた。これらの所見は壁細胞の分泌活動が盛んに行われていることを示しており、これらの細胞が多数観察された(図2)。ストレス負荷後8時間目以後は活動期の像と休止期の像が混在する所見がみられた(図3)。エネルギー産生場であるミトコンドリアについてはストレス負荷前後で著明な変化は観察されなかった。

2) 主細胞機能の変化

① 胃液内ペプシン活性の変化

胃液内ペプシン活性はストレス負荷前が $0.29 \pm 0.2$  Try. mg/ml であるが、ストレス負荷後有意に増加した。特に2時間目では $0.59 \pm 0.23$  Try. mg/ml と高値を示しその後もストレス負荷前値より高い値を持続した(表4)。

② 主細胞の電顕学的変化

ストレス負荷前の主細胞はペプシンノーゲンを含ん

図3 ストレス負荷後12時間目の壁細胞 ×2500

N:核, V: vesicle, IC:細胞内分泌細管, L:腺腔面。活動期および静止期の壁細胞が混在している。

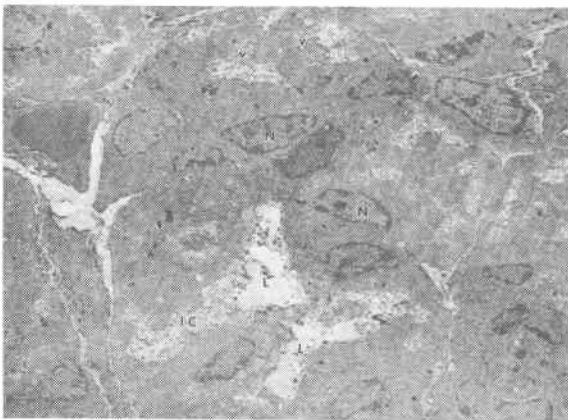


表4 水浸拘束ストレス後の胃液内ペプシン活性の経時的変化

ストレス負荷前 (Try.mg/ml)	水浸拘束ストレス後 (Try.mg/ml)							
	30分	1時間	2	4	6	8	12	24
0.29	* 0.50	* 0.38	* 0.59	* 0.47	0.35	* 0.44	* 0.47	* 0.56
+0.20	±0.06	±0.13	±0.23	±0.09	±0.12	±0.11	±0.10	±0.07

\* p<0.01: ストレス負荷種との間に

だ zymogen 顆粒が細胞内全体に分布し、このため粗面小胞体を細胞全体に観察することができなかった(表4)。ストレス負荷後の主細胞は30分目より zymogen 顆粒の腺腔面への移動が著明となり、1時間目および2時間目では zymogen 顆粒の腺腔への放出像が多数観察され、同時に粗面小胞体が細胞質内に観察されるようになった(図5)。ストレス負荷後4時間以後の主細胞の大部分は、細胞内の zymogen 顆粒の減少がみられ、粗面小胞体が細胞内に充満しているが、zymogen 顆粒の放出像はほとんど観察されなかった(図6)。

3) 上皮細胞よ電顕学的変化

ストレス負荷前の上皮細胞は腺腔面に薄く粘液顆粒

図4 ストレス負荷前の主細胞 ×3200

N:核, Z:zymogen 顆粒, L:腺腔面, zymogen 顆粒が主細胞内全体に観察される。

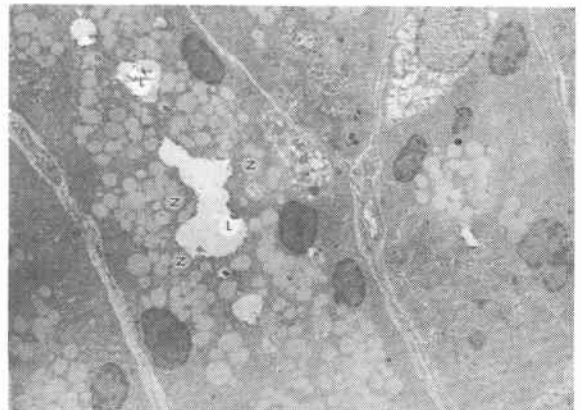


図5 ストレス負荷後2時間目の主細胞 ×5200

N:核, Z:zymogen 顆粒, Q:腺腔面, zymogen 顆粒の腺腔面への放出像が観察される。

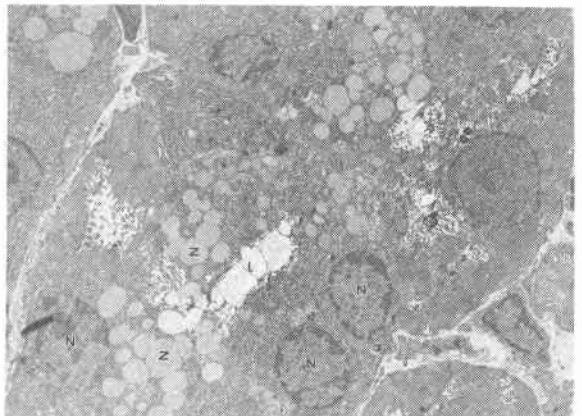
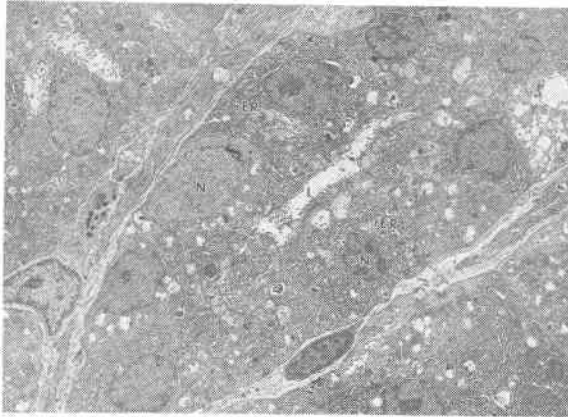


図6 ストレス負荷後8時間目の主細胞 ×3200  
N:核, rER:粗面小胞体, L:腺腔面, zymogen  
顆粒は減少し粗面小胞体が目立つ。



が層状に規則正しく配列されていた。ストレス負荷後の上皮細胞は、2時間および4時間目に粘液顆粒層の厚みが増加した。6時間目以後は粘液顆粒層の増加傾向はみられず、8時間目および12時間目ではむしろ粘液層の厚さが減少する傾向にあった。erosion 部位と

おもわれる上皮細胞は破壊像または欠損像として観察された(図7)。

3. 胃内分泌機能の変化

1) G細胞の機能的変化

① 血清ガストリン値の変化

血清ガストリン値はストレス負荷後に一過性に増加傾向を示したが、1時間目および2時間目はほとんど変化せず、4時間目以後は24時間目まで増加した。特にストレス負荷後6時間目では $188.92 \pm 37.63 \text{pg/ml}$ と最高値を示した(表5)。

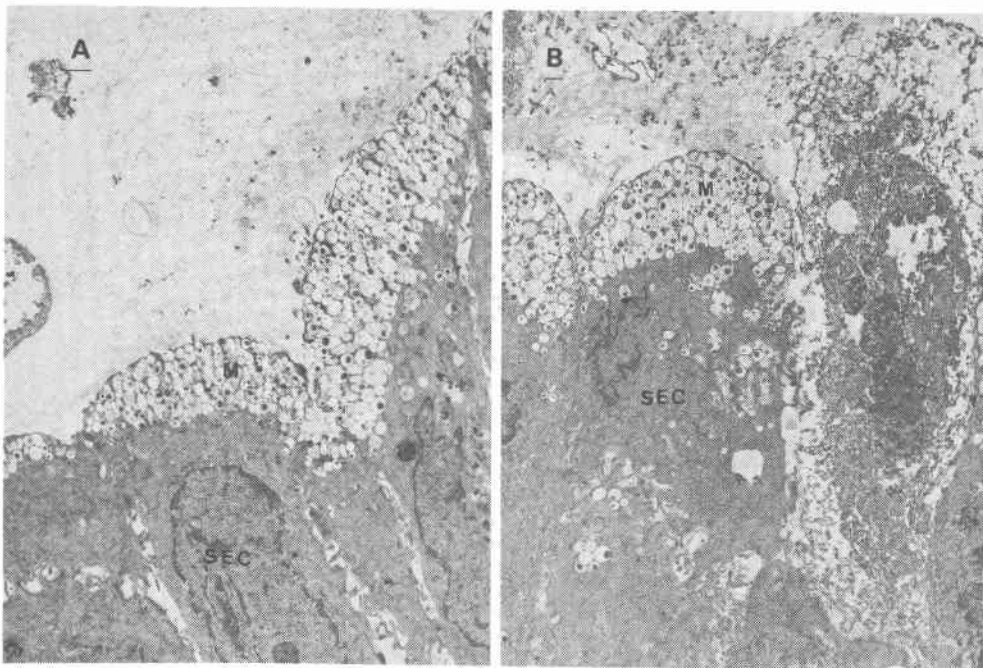
② 胃粘膜内ガストリン含有量の変化

胃粘膜内ガストリン含有量はストレス負荷後2時間目まで減少するが、4時間目に一過性の増加がみられ、8時間以降は再びストレス負荷前より有意の減少を示した(表6)。

③ G細胞の電顕学的変化

ストレス負荷前のG細胞は細胞質内にガストリン含有顆粒を均等に含んでいる細胞が多く観察された(図8)。ストレス負荷後早期には多くの細胞でガストリン含有顆粒が基底側細胞膜側へ移動しているのが観察さ

図7 A) ストレス負荷後1時間目の胃体上皮細胞 ×2000  
B) ストレス負荷後4時間目の胃体部上皮細胞 ×1800



SEC:上皮細胞, M:粘液顆粒  
A) 粘液顆粒が整然と並んでいる。  
B) 上皮細胞の破壊像が観察される。

表5 水浸拘束ストレス後の血清ガストリン値の経時的変化

ストレス 負荷前 (pg/ml)	水浸拘束ストレス後 (pg/ml)							
	30分	1時間	2	4	6	8	12	24
46.20 ±10.42	61.59 ±14.41	58.84 ±11.77	48.40 ±15.62	69.60 ±18.37	88.92 ±37.63	78.42 ±22.05	64.34 ±17.54	92.61 ±9.80

\* p<0.01  
\*\* p<0.05 } : ストレス負荷前値との間に

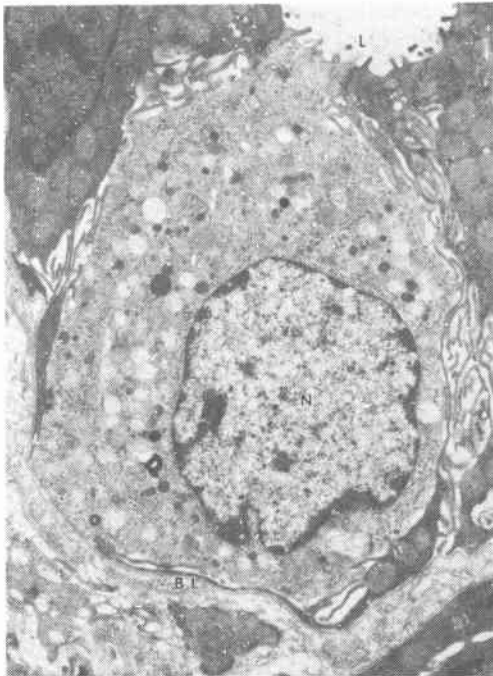
表6 水浸拘束ストレス後の幽門洞粘膜内ガストリン含有量の経時的変化

ストレス 負荷前 (ng/g.w.w.)	水浸拘束ストレス後 (ng/g.w.w.)							
	30分	1時間	2	4	6	8	12	24
43.2 ±8.5	32.7 ±3.8	33.7 ±13.6	15.5 ±8.5	61.3 ±9.7	44.2 ±6.2	32.1 ±26.8	10.7 ±3.7	21.1 ±8.0

\* p<0.01  
\*\* p<0.05 } : ストレス負荷前値との間に

図8 ストレス負荷前のG細胞 ×12000

N:核, BL:基底側細胞膜, L:腺腔面, ガストリン含有顆粒が細胞全体に観察される,



れ(図9), 6時間目, 8時間目には基底膜細胞膜の一部にΩ型の開口分泌像が観察された(図10)。8時間目以後は一部の細胞で細胞質内にガストリン含有顆粒が

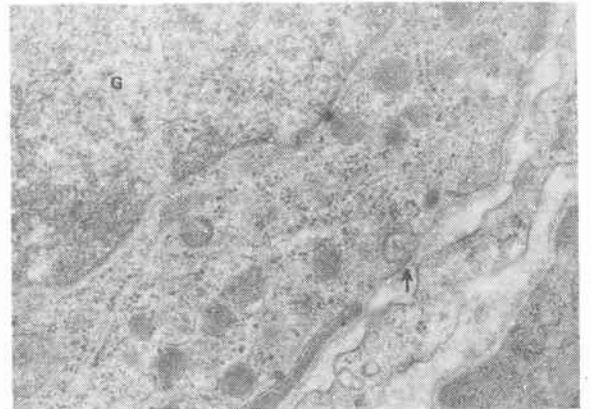
図9 ストレス負荷後1時間目のG細胞 ×10000

N:核, BL:基底側細胞膜, L:腺腔面, ガストリン含有顆粒が基底側細胞膜へ移動している,



図10 ストレス負荷後8時間目のG細胞 ×54000

↑:Ω型開口分泌像, G:G細胞



著明に減少しているのや空が存在しているのが観察された。Golgi装置には特に大きな変化は認められなかった。

2) EC細胞の機能的変化

① 血中セロトニン値の変化

血中セロトニン値はストレス負荷前値が1,350±220



ng/ml であり、ストレス負荷後30分目では2,015±256 ng/ml と有意に増加するが、2時間目では1,610±382 ng/ml と減少し、その後は再び漸増の傾向を示し、ストレス負荷前と同等かそれ以上の値を示した(表7)。

② 幽門粘膜内セロトニン含有量の変化

ストレス負荷前の粘膜内セロトニン含有量は9.2±4.8μg/g.w.w であり、30分目では21.4±8.5μg/g.w.w と有意に増加するが、2時間目では10.8±6.7μg/g.w.w と一過性に減少し、その後再び漸増傾向を示し6時間目以降は高値を維持した(表8)。

③ EC細胞の電顕学的変化

ストレス負荷前のEC細胞内セロトニン含有顆粒は、ストレス負荷前後で著明な変化はみられず、また

表7 水浸拘束ストレス後の血中セロトニンと経時的変化

ストレス負荷前 (ng/ml)	水浸拘束ストレス後 (ng/ml)							
	30分	1時間	2	4	6	8	12	24
1350 ±220	2015 ±256*	1762 ±350	1610 ±382	1580 ±410	1800 ±481	1654 ±284	1715 ±381	1930 ±486

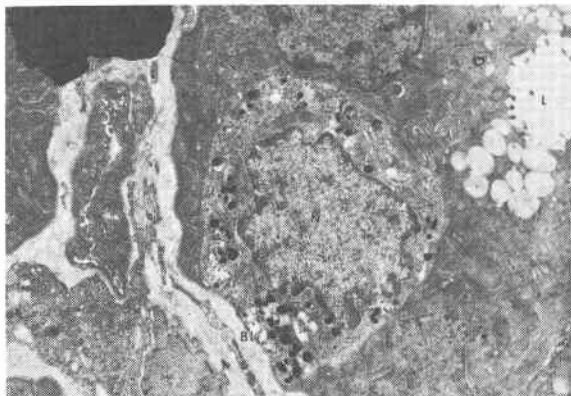
\* p<0.01: ストレス負荷前値との間に

表8 水浸拘束ストレス後の幽門洞粘膜内セロトニン含有量の経時的変化

ストレス負荷前 (μg/g.w.w)	水浸拘束ストレス後 (μg/g.w.w)							
	30分	1時間	2	4	6	8	12	24
9.2 ±4.8	21.4 ±8.5*	19.6 ±10.1	10.8 ±6.7	15.4 ±8.6	22.1 ±12.2	20.3 ±11.5	20.0 ±12.5	21.7 ±13.5

\* p<0.02 ストレス負荷前値との間に

図11 ストレス負荷後4時間目のEC細胞 ×9000  
N:核, BL:基底側細胞膜, L:腺腔面, セロトニン含有顆粒が細胞内全体に観察される。



基底側細胞膜および細胞間隙に開口分泌像を見出すことはできなかった。また Golgi 装置にも著明な変化は観察されなかった(図11)。

IV 考 察

今日われわれが経験するストレス潰瘍は、脳手術後、頭部外傷後、肝胆道系の手術後、敗血症の経過中などに発生し、ストレスが強い場合にはその予後は決して良いものではない。したがってストレス潰瘍発生に対する予防法あるいは治療法の確立が切望されているが未解決の問題が多い。その予防法あるいは治療法を確立するためにはストレス潰瘍の病態を明らかにする必要があるが、現在まで実験的にいろいろが報告がなされている。

実験的ストレス潰瘍を作成する方法は、出血性ショック、熱傷、電撃ショック、低O<sub>2</sub>血症、敗血症など種々の方法が報告されているが、著者は再現性がよく、簡便に実験が行える高木、岡部<sup>13)</sup>の水浸拘束法を用いた。本実験で発生するストレス潰瘍の特長は、発生部位が胃体部粘膜であり、前胃部および幽門部にはほとんど発生しないことである。潰瘍の肉眼的形態は点状あるいは線状で出血を伴っており、これを水洗いによって除去すると、びらんがそのまま残っている。組織学的には粘膜筋板き達しない粘膜のみの欠損である。以上のことは他のストレス潰瘍実験とはほぼ同様の所見である。ストレス潰瘍の発生に対する胃酸、ペプシンの役割に関して、Brodie<sup>14)</sup>、Kigagawa<sup>15)</sup>らはラットに関する実験で胃酸の増加を指摘し臨床的にもRobbins<sup>15)</sup>塩野<sup>16)</sup>が、胃酸はストレス潰瘍の重要な発生因子であると報告している。その反面、ストレス潰瘍では胃酸の増加はみられないとの報告がいくつかみられるが、これはストレス潰瘍作成方法、胃液測定時期、胃液の採取法あるいはその測定法によって成績が異ってくるのではないかとおもわれる。すなわち教室の塩野<sup>16)</sup>も報告しているようにストレス潰瘍発生直後では胃酸は著明に亢進しているが、その後急速に低下し、発生後1週間目には正酸になってしまう。また一担胃内に分泌されたH<sup>+</sup>がback diffusionによって粘膜関門を通過することにより胃内pHがみかけより高くなることも考えられる。潰瘍発生における酸、ペプシンの重要性に関して教室の小島<sup>17)</sup>は潰瘍作成実験を行っているが、それによると塩酸のみの滴下よりも塩酸にペプシンを混入した方がより深い潰瘍を作成することができることを証明している。同様にJoffe<sup>18)</sup>はラットを用いて胃酸にペプシンを加えることにより

潰瘍の発生率が著明に増加したと述べている。また長町<sup>19)</sup>は Cinchophen を用いて胃粘膜内ペプシン残存率を計算して潰瘍発生におけるペプシンの重要性を報告している。

胃酸分泌細胞である壁細胞は細胞質内に大きな核とエネルギー産生源であるミトコンドリアを豊富にもち、細胞内分泌細管が深く入り込み、無数の microvilli をもっていることで特徴づけられている。ストレス負荷後壁細胞が分泌活動期の像を呈することは Rosa<sup>20)</sup>、Ito<sup>21)</sup>らによって裏付けられている。著者の実験においてもストレス負荷後壁細胞は vesicle の減少、細胞内分泌細管の拡張および microvilli の増加が2時間目から4時間目にかけて観察された。これは胃酸酸度がストレス負荷直後より有意に増加する所見と一致するものである。一方ペプシン分泌細胞である主細胞は zymogen 顆粒をもち粗面小胞体がよく発達した細胞として知られている。ペプシノーゲンを含んだ zymogen 顆粒が、ストレス負荷後1時間目から2時間目にかけて開口放出像として最も多く観察されたが、この所見はストレス負荷直後より胃液内ペプシン活性が有意に増加したことと一致している。関<sup>22)</sup>もテトラガストリン、ヒスタミン刺激による胃内ペプシン濃度と形態学的開口分泌像が平行していると述べている。このように表裏一体となつてはたらく塩酸、ペプシンがストレス負荷後比較的早期に分泌されることが形態学的ならびに生理学的に証明され、これらがストレス潰瘍の発生に大きな役割をはたしていることがわかった。

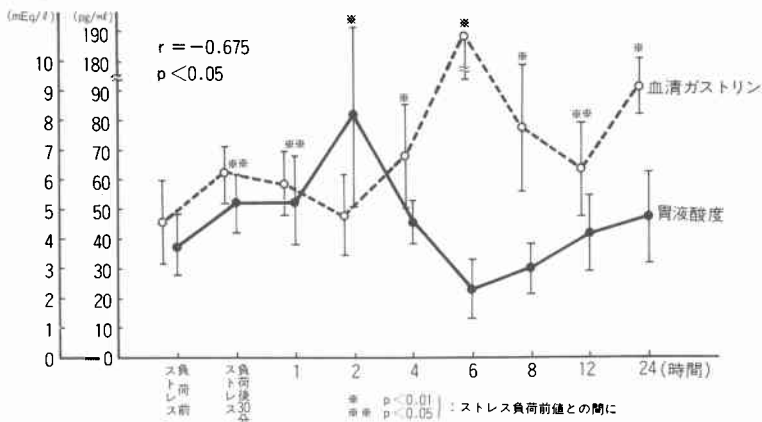
胃粘膜防御因子の1つである粘液については Hollander<sup>23)</sup>がその役割を報告して以来数多くの文献がみられる。粘液が胃粘膜防御因子であることは Kowalewski<sup>24)</sup>らがラットやイヌを用いて、粘液層を除去して2Nの食塩水を注入すると潰瘍がすみやかに起こるという実験から疑いの余地がない。粘液顆粒産生細胞である胃上皮細胞の変化を電顕学的にとらえた報告は Eastwood<sup>25)</sup>が尿素を用いて胃上皮細胞間の tight junction の変化を、また Hingson<sup>26)</sup>がアスピリンによる表層粘膜の変性を報告している。著者はストレス負荷後2時間目より4時間目にかけて胃上皮細胞の粘液層の増加を観察しているが、この所見は酸、ペプシン分泌が亢進している時期と一致しており、粘膜の酸、ペプシンに対する防御反応のあらわれと思われる。Menguy<sup>27)</sup>は同様に動物実験で酸分泌亢進が粘液分泌を促すことを報告している。ストレス負荷後6時

間以後は粘液顆粒層の減少がみられ、ところどころ上皮細胞の変性像およびその周辺の粘液顆粒の消失が出現してくる。これらの所見は Eastwood<sup>25)</sup>らのいう胃上皮細胞の変性による二次的变化と考えられ、肉眼的には erosion として観察される。

消化管ホルモンであるガストリンの役割については胃酸分泌をひきおこすホルモンとしてよく知られているが、近年 trophic action として胃の血流および粘膜の生成に関与していることがわかってきている。ストレス潰瘍における血清ガストリン値の役割については教多くの報告がみられるが、その見解については一致をみていない。臨床的には Bowen<sup>28)</sup>、磯部<sup>29)</sup>が脳外科手術後に発生するストレス潰瘍は高ガストリン血症を伴うと報告している。一方、大岩<sup>30)</sup>は術後必ずしも血清ガストリンはストレス潰瘍発生時には高くないと述べている。著者の成績では血清ガストリンはストレス負荷後4時間目より有意の増加を示しているが、酸分泌はストレス負荷後30分より有意の増加を示している。このような胃外分泌と内分泌の時期のずれは、胃酸分泌がストレス直後より亢進するため、放出されつつあったガストリンは胃内 pH の急激な低下により negative feedback 機構がはたらき、その放出は中断され、血中ガストリン値は低下する。しかし酸分泌の亢進は4時間目にはみられなくなり、この頃より胃内 pH も増加するため一旦中断されたガストリン放出が再開され、4時間目以降6時間目をピークに24時間目までガストリンの放出は続く、胃酸酸度と血清ガストリン値との間には有意 ( $P < 0.05$ ) の逆相関関係がみられたことにより、水浸拘束負荷後の血清ガストリンの増加は酸分泌促進作用を示さず、したがってストレス潰瘍発生に関与していないことが示唆された (図 12)。胃幽门洞粘膜用ガストリンの含有量との血清ガストリンとの間にも逆相関関係がみられ、ストレス負荷直後より粘膜内ガストリン含有量は低下し、4時間目で一旦貯蔵されるが8時間目より再び減少しはじめ、24時間まで減少しつづける。このようにガストリン放出が持続しても、粘膜内ガストリン含有量が消失してしまわないのは、ガストリン産生の速度がはやいため Orci<sup>31)</sup>は同じ内分泌細胞である膵臓のB細胞の分泌粒生成を  $H^3$  をラベルした実験で検討し、分泌顆粒は Gokgi 装置を介して1時間以内に産生されることを確認している。また Sato<sup>32)</sup>は形態学的にG細胞を観察し、分泌顆粒生成は相当はやいと推定している。これらのことからガストリンは放出されるあとからG細胞



図12 水浸拘束ストレスラットの胃液酸度と血清ガストリンとの相関関係



胞内でその生成が盛んに行なわれているものと推定される。ガストリン放出機序については Fujita<sup>33)</sup>, 宮上<sup>34)</sup>らにより従来の透分泌ではなく開口分泌像によることが確認されてきている。著者の実験においてもストレス負荷直後より分泌顆粒の基底側細胞膜側への移動がみられ分泌準備状態の像を呈し、6時間目にはΩ型の開口分泌像が観察されたが、この開口分泌像がとらえられることは非常にまれで、このことから6時間目にガストリン放出が最も盛んに行われていることが形態学的にも証明されたといえる。

生体活性アミンの一つとして知られているセロトニンの生理学的役割は、毛細血管の透過性の亢進、平滑筋の収縮、蠕動運動より亢進ヒスタミンの遊離と多岐にわたっている。セロトニンと潰瘍の関係は古橋<sup>35)</sup>がセロトニン投与により腺胃に潰瘍発生を認め Guth<sup>36)</sup>はラットのストレス潰瘍実験におおて胃粘膜の肥細胞の減少を認め、脱顆粒によって遊離したセロトニン、ヒスタミンなどの血管作動性物質の作用により胃粘膜血流障害をきたし潰瘍が発生すると述べている。永井<sup>37)</sup>はセロトニン放出物質である reserpine を投与すると胃に潰瘍が生ずると報告している。教室の金沢<sup>38)</sup>もラットを用いて末梢セロトニン放出剤である decacerpine を使用すると潰瘍係数は増加し、胃幽門粘膜内のセロトニンは減少し monoamine oxidase の拮抗物質である MAO-I を前処置すると潰瘍係数は減少し、胃幽門粘膜内セロトニンが増加し、測瘍係数と胃幽門粘膜内セロトニンとは逆相関関係がみられると報告している。著者の実験では血中セロトニンはストレス負荷直後に有意の増加を示すが、その後は漸減し、6時間目より再び漸増する。6時間目以降の持続的増

加は潰瘍係数がこの頃より高値を持続するのとは一致しており、セロトニンが潰瘍発生に大きな役割をしていることが示唆された。幽門洞粘膜内セロトニン含有量も、血中セロトニンとはほぼ同様の傾向で増減を示しているが、これは粘膜内セロトニンの合成速度がすみやかにしかも放出前よりも合成量が多いためではないかと推定される。形態学的には胃幽門粘膜の EC 細胞の電顕学的検討ではストレス負荷前後で著明な変化をとらえることができずかつ開口分泌像の観察にも失敗したが、これはラットのセロトニンが肥細胞および血小板に含まれているためと思われる。

## V 結 語

1. 水浸拘束ストレスラットの胃に発生する潰瘍は胃体部を中心とした UIO-I, hemorrhagic erosion であり、その潰瘍係数は4～6時間目で著明に増加し、それ以後は24時間目まで一定の値を保った。
2. 胃液酸度はストレス負荷直後より2時間目まで有意に増加するが、4時間目より元に戻る傾向がみられた。胃液内ペプシン活性はストレス直後より増加して2時間目に最高値を示し、その後も前値より高い値を持続した。壁細胞と生細胞の電顕学的検討でもこれらを裏付ける所見が得られた。
3. 粘液顆粒産生細胞である胃上皮細胞はストレス負荷後2～4時間目まで粘液分泌を増加して粘膜防御作用をするが、これ以降はこの作用が急激に低下し上皮細胞の変性が散見された。
4. 血中ガストリンは、胃液酸度とは有意の逆相関関係にあり、ストレス負荷4時間目以降に有意に増加した。幽門粘膜内ガストリン含有量は血中ガストリンとは逆相関関係にあった。G細胞は電顕学的観察で、ス

トレス負荷後6時間目に $\Omega$ 型開口分泌像が得られた。

5. 血中セロトニン $\beta$ は、ストレス直後に有意の増加がみられ、その後一旦減少するが、6時間目より再増加がみられ、幽門粘膜内セロトニン含有量も同様の傾向にあった。EC細胞の電顕学的検討では、セロトニン放出を裏付ける所見を得ることができなかった。

以上の結果より水浸拘束ストレスラット胃の潰瘍はストレス負荷直後の酸、ペプシンの増加、すなわち攻撃因子の増強によって惹起され、6時間目頃よりみられる粘液成分の減少と一部セロトニンを介しての血流低下による防御機構の減弱によって潰瘍係数が長時間にわたって減少しないことが示唆された。尚血中ガストリンは二次的に酸分泌亢進作用を示さず、潰瘍発生にはほとんど関与していないことが示唆された。

本論文の要旨は第7回、第8回、第10回実験潰瘍懇話会、第21回日本消化器病学会において発表した。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲をいただきました城所 功教授ならびに終始御指導、御鞭達をいただきました渡部洋三講師に深謝する。また御協力下さった加藤弘一先生、研究室各位ならびに中央電顕室諸氏に深謝する。

#### 文 献

- 1) Selye H: Thymus and adrenals in the response of the organism to injuries and intoxication. *Br J Exp Pathol* 17: 234-248, 1936
- 2) Cushing H: Peptic ulcers and the interbrain. *Surg Gynec & Obst* 55: 1-34, 1932
- 3) French JD, Longmire RL, Porter RW et al: Extravagal influences on gastric hydrochloric acid secretion induced by stress stimuli. *Surgery* 34: 621-632, 1953
- 4) Kitagawa H, Fujiwara M, Osumi Y: Effect of water-immersion stress on gastric secretion and mucosal blood flow in rats. *Gastroenterology* 77: 298-302, 1979
- 5) Sander LD, Chalender AM, Johnson LR: Changes in liver and gastric mucosal hexosamine synthesis after restraint. *Gastroenterology* 68: 285-293, 1975
- 6) 北島政樹, 相馬 智: 急性胃潰瘍の成因に関する研究. *日消外会誌* 12: 432-436, 1979
- 7) Hunt TK: Injury and repair in acute gastroduodenal ulceration. *Am J Surg* 125: 12-18, 1973
- 8) Rowley DA: Venous constriction as the cause of increased vascular permeability produced by 5-hydroxytryptamine, histamin, bradykinin and 48/80 in the rat. *Br J Exp Pathol* 45: 56-67, 1964
- 9) 金沢 寛: 水浸拘束ストレス潰瘍発生における catecholamines と交感神経系の役割に関する研究. *日消病会誌* 77: 1345-1354, 1980
- 10) Roszkiewicz A, Roszkiewicz J, Lasek J: Ultrastructure of cells of proper gastric glands and their stroma in hemorrhagic shock in the rat. *Z Mikrosk-anat Forsch Leipzig* 90: 1097-1112, 1976
- 11) Rainsford KD: Aspirin and gastric ulceration: Light and electron microscopic observation in a model of aspirin plus stress-induced ulcerogenesis. *Br J Exp Pathol* 58: 215-219, 1977
- 12) 戸部隆吉, 山口孝之: ストレス潰瘍の発生におよぼす迷走神経の役割. 実験潰瘍. 東京, 日本メディカルセンター, 1976, p231-240
- 13) 岡部 進, 竹内孝治, 高木敬次郎: ストレス潰瘍. 実験潰瘍. 東京, 日本メディカルセンター, 1976, p25-33
- 14) Brodie DA, Marshall RW, Mereno OM: Effect of restraint on gastric acidity in the rats. *Am J Physiol* 202: 812-814, 1962
- 15) Robbins R, Idjadi F, Stahl WM: Studies of gastric secretion in stressed patients. *Ann Surg* 175: 555-562, 1972
- 16) 塩野 潔: Hemorrhagic erosion における胃液分泌動態に関する考察. *日消病会誌* 74: 903-909, 1977
- 17) 小島常信, 城所 功: 実験的塩酸潰瘍作成時の粘液分泌による防御機能に関する研究. 東京, 第2回防御因子研究会, 1979
- 18) Joffe SN, Roberts NB, Jaylor WH et al: Exogenous and endogenous acid and pepsin in the pathogenesis of duodenal ulcers in the rat. *Dig Dis Sci* 25: 837-841, 1980
- 19) 長町幸雄: 実験的胃潰瘍と胃粘膜内ペプシン. *日消病会誌* 69: 1151-1160, 1972
- 20) Rosa F: Ultrastructure of the parietal cell of the human gastric mucosa in the resting state and after stimulation with histalog. *Gastroenterology* 45: 354-363, 1963
- 21) Ito S, Schofield GC: Studies on the depletion and accumulation of microvilli and changes in the tubulovesicular compartment of mouse parietal cells in relation to gastric acid secretion. *J Cell Biol* 63: 364-382, 1974
- 22) 関 啓: 正常者の胃液ペプシンに関する研究—tetoragastrin 法と histalog 法の比較および刺激前後の主細胞電顕像について—. *日消病会誌* 71: 135-149, 1974
- 23) Hollander F: The two-component mucous barrier. *Arch Int Med* 93: 107-120, 1954

- 24) Kowalewski K, Ghmura G, Schier J: Experimental deficiency of gastric 'mucus barrie'. *Am J Dig Dis* 14 : 788—796, 1969
- 25) Eastwood GL, Kirchner JP: Changes in fine structure of mouse gastric epithelium produced by ethanol and urea. *Gastroenterology* 67 : 71—84, 1974
- 26) Hingson DJ, Ito S: Effect of aspirin and related compounds on the fine structure of mouse gastric mucosa. *Gastroenterology* 61 : 106—117, 1971
- 27) Menguy R: Regulation of gastric mucus secretion. *Mechanisms and Control*, Pergamon Press, Oxford, 1967, p177—185
- 28) Bowen JC: Increased gastric release following penetrating central nervous system injury. *Surgery* 75 : 720—724, 1974
- 29) 磯部 茂: ストレス潰瘍の成因と外科治療に関する研究. *日消外会誌* 14 : 27—38, 1981
- 30) 大岩俊夫, 杉町圭蔵: 急性胃潰瘍(幽門前庭部)における胃液分泌および血中ガストリンの消長に関する研究. *日外会誌* 81 : 407—415, 1980
- 31) Orci L: A portrait of the pancreatic B-cell. *Diabetologia* 10 : 163—187, 1974
- 32) Sato A: Quantative electron microscopic studies on the kinetics of secretory granules in G cells. *Cell Tiss Res* 187 : 187 : 45—59, 1978
- 33) Fujita T, Kobayashi S: Experimentally induced granule release in the endocrine cells of dog pyloric antrum. *Z Zellforsch* 116 : 52—60, 1971
- 34) 宮上寛之: 選迷切兼幽門形成術後の G cell の生理学的ならびに形態学的研究. *日消病会誌* 75 : 628—638, 1978
- 35) 古橋貞臣: 実験的胃潰瘍に関する研究—serotonin 属瘍について—. *日消病会誌* 66 : 670—681, 1968
- 36) Guth PH, Kozbur X: Pathogenesis of gastric microcirculatory and most cell changes in restraint stress. *Am J Dig Dis* 13 : 530—535, 1968
- 37) 永井昭之介: 実験的胃潰瘍に関する研究—ラット腺胃におけるヒスタミン及びセロトニンの変動を中心として—. *日消病会誌* 66 : 1315—1331, 1968
- 38) 金沢 寛: 水浸拘束ラット胃の潰瘍発生に対する 5-HT, カテコールアミンの役割について. *実験潰瘍* 6 : 22—24, 1979